快速膜乳化技术制备均一小粒径、高浓度琼脂糖生化分离介质及用于抗生素高效分离纯化

朱凯，赵岚，黄永东，马光辉

（中国科学院过程工程研究所生化工程国家重点实验室，北京　100190）

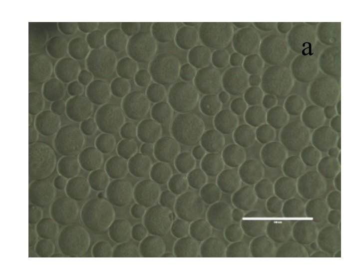
琼脂糖微球是生化分离领域应用最广泛的分离介质基质，但尚存在微球粒径不均一、机械强度低以及原料的转化率低等问题，这导致生物大分子的分离纯化以及大规模层析生产效率低、工艺复杂化，成为了生化分离领域的发展瓶颈。常规搅拌等方法所制备的琼脂糖微球中琼脂糖含量大多小于 6 wt%，当琼脂糖含量超过 6 wt%时，水相粘度过大，传统的制备方法很难将高粘度的水相均匀地分散到油相中形成均一的乳液，导致生成的乳液粒径不均一。对于生化分离介质来说，小粒径介质能提供大比表面积，分辨率高；高琼脂糖含量不仅可以提高介质强度，还能丰富微球中的有效官能基团，为后续衍生应用提供基础。

本研究采用新型快速膜乳化技术，将琼脂糖加热溶解后，配制成所需浓度的琼脂糖溶液作为水相。将一定量的油溶性乳化剂溶于与水不相溶的有机相中并预热到一定温度下作油相。利用搅拌法将水相与油相混合制备得到 W/O 型初乳液。利用快速膜乳化技术，通过调控压力，将初乳液迅速通过疏水修饰后 SPG 膜得到粒径均一的 W/O 型乳液，最后在缓慢搅拌的条件下冷却固化乳液胶凝，得到粒径均一的琼脂糖微球。

以 6%琼脂糖浓度微球为例，在以石油醚及液体石蜡作为油相，与外水相体积比为 1:6 下，过膜压力 0.3 kgf/cm^2 的条件下，得到的微球平均粒径为 30 μm，Span 值=0.62，CV 值=25%。对比市售 Sepharose 6FF 介质，粒径由 90 μm 降到了 30 μm，而其 CV 值提高了 47%。而整个制球过程时间不超过 10 min，琼脂糖原料的成球转化率达到了 100%。研究结果表明，当琼脂糖浓度分别达到 8%、10%、12%、16%时，利用快速膜乳化法制备出的微球粒径可达 28-32 μm，Span 值<0.9，CV 值<18%。

快速膜乳化制备的 8%浓度琼脂糖微球经交联再通过烯丙基缩水甘油醚活化并偶联磺酸基制备成阳离子交换介质。上述介质用于纯化抗生素（万古霉素和螺旋霉素），粗品经柱上层析分离后，收集洗脱液，用 HPLC 分析纯品含量。研究结果表明，万古霉素纯度由 88.7%提高至 95.1%，螺旋霉素纯度提高至 99.9%，纯度有了极大地提高。

快速膜乳化具有简单、高效等优点，在制备均一小粒径、高琼脂糖含量的分离介质方面具有突出优势。同时该方法也适用于其他载药纳微球的制备，有很好的应用前景。



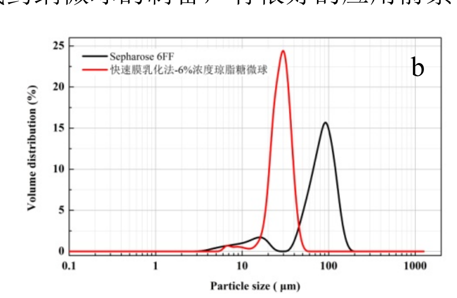


图 1 琼脂糖微球 (a) 光学显微镜照片； (b) 粒径分布

致谢：国家重点研发计划（No.2016YFF0202304）,国家自然科学基金（No.21306206, 21476241）,国家重大仪器基金（No.2013YQ14040502）,北京市自然科学基金（No.2172054）

作者简介：朱凯(1990-)，男，安徽省淮南市人，硕士研究生，工作单位：中国科学院过程工程研究所，助理工程师，研究方向：分离介质与纯化，Email:zhukai@ipe.ac.cn